

刘龙昌,司卫杰,周红丽,等. 3种酸碱环境模拟方法的比较[J]. 江苏农业科学,2015,43(10):426-431.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.10.133

3 种酸碱环境模拟方法的比较

刘龙昌,司卫杰,周红丽,王菲,陈然,周正军

(河南科技大学林学院,河南洛阳 471003)

摘要:比较研究 NaOH/HCl 法、磷酸缓冲液法和综合法不同酸碱环境模拟方法对确定适宜的方法具有重要意义。以白菜(*Brassica rapa* var. *chinensis*)为试验材料,研究 NaOH/HCl 法、磷酸缓冲液法和综合法对种子萌发和幼苗生长的影响。结果表明,不同模拟方法的萌发指数、活力指数、根长和苗长在所有 pH 值条件下均有极显著差异($P < 0.01$)。处理液浸种时,所有 pH 值条件(除了 pH 值为 6 的以外)下不同模拟方法的萌发率差异显著($P < 0.05$);蒸馏水浸种时,不同模拟方法的萌发率虽然也有一定的差异,但随 pH 值的变化并未呈现出规律性变化。在所有 pH 值条件下,磷酸缓冲液法的上述 5 个参数都最低,同时它们也显著低于对照。这说明磷酸缓冲液对种子萌发和幼苗生长有明显的抑制和毒害作用。用 NaOH/HCl 法模拟时,在大多数 pH 值条件下,处理间及其与对照间的上述 5 个参数均无明显差异,蒸馏水浸种时尤为如此。这表明 NaOH/HCl 法和磷酸缓冲液法不是合适的模拟方法,综合法是最理想的方法;处理液浸种好于蒸馏水浸种。

关键词:pH 值;酸碱环境;模拟方法;萌发指数;活力指数;根长;苗长;白菜

中图分类号: O655.22 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)10-0426-06

在植物的生活史中,种子萌发和幼苗阶段是植物对环境胁迫忍耐力最小的阶段^[1]。除了种子自身的健康状况、休眠等内部因素以外,种子能否顺利萌发出苗,还受到外界环境因子如温度、光照、pH 值、土壤水分和盐分等的影响^[2-3],pH 值是影响土壤养分形态和有效性的主要因素之一^[4]。大多数植物适合在中性土壤中生长,pH 值过高或过低都会影响种子萌发和幼苗生长^[5],也可能使植物所需营养元素的生物有

效性发生变化,进而导致植株某些营养元素失调^[6]。pH 值也可通过影响种子的蛋白水解酶活性或膜势能影响种子的萌发^[7-8]。

在研究 pH 值对植物种子萌发和幼苗生长的影响时,不同研究者往往采用不同的方法模拟土壤的酸碱环境,目前涉及的模拟方法多达近 10 种^[9-12]。按化合物种类和作用原理的不同,可将其可分为三大类:强酸碱法^[13]、磷酸缓冲液法^[3,14]、综合法,即不同 pH 值区段采用不同的缓冲溶液^[2,15]。因所采用的化合物种类不同,上述各种模拟溶液中的离子类型和离子强度就会明显不同,不同模拟方法 pH 值的稳定性也会有一定差异。因此,从理论上来说,采用不同方法模拟的研究结果可能会有很大差异。但是,目前尚缺乏这方面的实证性研究报道。因此,本研究以白菜(*Brassica rapa* var.

收稿日期:2014-10-22

基金项目:地方高校国家级大学生创新创业训练计划(编号:111419040219);河南科技大学人才基金(编号:09001076)。

作者简介:刘龙昌(1968—),男,山东菏泽人,博士,副教授,主要从事植物学和入侵植物研究。E-mail:snowliu91@163.com。

[6]孙波,张桃林,赵其国,等.我国东南丘陵山区土壤肥力的综合评价[J].土壤学报,1995,32(4):362-369.

[7]聂斌斌,蔡强国,张卓文,等.植被恢复过程中土壤有机质和全氮的变化特征及区域差异[J].中国生态农业学报,2011,19(2):363-371.

[8]王尚义,石瑛,牛俊杰,等.煤矸石山不同植被恢复模式对土壤养分的影响——以山西省河东矿区1号煤矸石山为例[J].地理学报,2013,68(3):372-379.

[9]王征,刘国彬,许明祥,等.黄土丘陵区植被恢复对深层土壤有机碳的影响[J].生态学报,2010,30(14):3947-3952.

[10]刘沛松,王健胜,楚纯洁,等.豫西低山丘陵区不同土地利用方式对陡坡地土壤理化性状的影响[J].干旱地区农业研究,2014,32(1):208-212,229.

[11]张庆贵,宋永昌,由文辉.浙江天童植物群落次生演替与土壤肥力的关系[J].生态学报,1999,19(2):174-178.

[12]唐亚,陈克明,谢嘉穗,等.论固氮植物在山区农业持续发展中的应用[J].地理研究,1999,18(1):73-78.

[13]刘沛松,王秀丽,文祯中,等.伏牛山低山丘陵区林-草复合生态修复模式研究[J].平顶山学院学报,2011,26(2):88-91.

[14]魏孝荣,邵明安.黄土高原沟壑区小流域不同地形下土壤性质分布特征[J].自然资源学报,2007,22(6):946-953.

[15]陈刚才,甘露,王仕禄,等.土壤氮素及其环境效应[J].地质地球化学,2001,29(1):63-67.

[16]张振国,黄建成,焦菊英,等.黄土丘陵沟壑区退耕地人工柠条林土壤养分特征及其空间变异[J].水土保持通报,2007,27(4):114-120.

[17]王芳,黄玫,孙希华,等.大小兴安岭林区不同林型土壤养分综合评价[J].水土保持通报,2013,33(1):182-187.

[18]于江,朱昌雄,郭萍,等.生物腐植酸对新疆甘草产地沙退化土壤修复效果评价——以土壤养分指标为例[J].中国农业气象,2010,31(3):369-373,378.

[19]Yu C B,Chen F,Luo Z J,et al. Evaluation of soil nutrient status in poplar forest soil by soil nutrient systematic approach[J]. Journal of Forestry Research,2004,15(4):298-300,337.

chinensis)为试验材料,对比研究3种常用方法的模拟效果,以期确定为适宜的模拟方法提供有益的参考。

1 材料与试验方法

1.1 试验材料

选择对酸碱胁迫比较敏感的白菜为研究材料,挑选成熟度好且健康饱满的种子作试材。种子活力的测定采用氯化三苯四氮唑(TTC)法,经测定种子活力达95%以上。

1.2 种子萌发试验

用pH值分别为4、5、6、7、8、9、10等7个水平的模拟酸碱溶液为培养液,以蒸馏水为对照,进行种子萌发试验。各处理培养皿中初次加入约7 mL培养液浸湿滤纸,以后每天加入1~3 mL相同pH值的培养液以保持滤纸湿润。在试验过程中,每2 d更换1次滤纸,补充相同pH值培养液,以保持培养皿内pH值恒定。将培养皿置于人工智能培养箱培养,培养条件为:光暗周期12 h/12 h,光照度250 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,温度25 $^{\circ}\text{C}$,每个处理水平均设4个重复。

采用2种种子预处理方法:(1)蒸馏水浸种处理。将白菜种子用1%次氯酸钠溶液消毒5 min,自来水冲洗5 min后用蒸馏水浸泡3 h,然后滤干种子。(2)培养液浸种处理。用各培养液浸泡3 h,其他处理同上。

1.3 3种酸碱模拟溶液的配制方法 (1)NaOH/HCl法。用1 mol/L HCl溶液和1 mol/L NaOH溶液将蒸馏水调配制pH值分别为4、5、6、7、8、9、10的溶液^[16]。(2)磷酸缓冲液法。用0.2 mol/L NaH_2PO_4 溶液和0.2 mol/L Na_2HPO_4 溶液配制pH值分别为4、5、6、7、8、9、10的缓冲液^[3,14]。(3)综合法。用2 mmol/L邻苯二甲酸氢钾与1 mol/L HCl配制成pH值为4的缓冲液;用2 mmol/L 2-(*N*-吗啉)乙磺酸(MES)与1 mol/L NaOH配制pH值分别为5、6的缓冲液,用2 mmol/L 4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES)与1 mol/L NaOH配制pH值分别为7、8的缓冲液,用2 mol/L *N*-三(羟甲基)甲基甘氨酸与1 mol/L NaOH配制pH值为9、10的缓冲液^[2]。

1.4 数据处理及统计分析

发芽试验以胚根露出种皮2 mm作为萌发的标志,每12 h统计发芽数,连续12 h无种子发芽即结束发芽试验,并于试验后72 h测定根长和苗长。计算萌发率 G_t 、萌发指数 G_t 和活力指数 V_t 。其中:萌发率 $G_t = \text{发芽种子数}/\text{试验种子数} \times 100$;萌发指数 $G_t = \sum G_t/D_t$ (G_t 为第 t 天时的萌发数, D_t 为相应的萌发时间;活力指数 $V_t = S \times \sum G_t \times D_t$ (S 为幼苗的平均长度=根长+苗长)^[11]。其中,萌发率和萌发指数为萌发参数;苗长、根长和活力指数为生长参数。

对种子萌发率等数据进行反正弦转换,采用SPSS 18.0软件包进行显著性检验。单因素方差(One Way ANOVA)分析和多重比较(LSD),用Excel 2003作图,研究结果用“平均值 \pm 标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 3种酸碱环境模拟方法对种子萌发的影响

表1显示,蒸馏水浸种时,不同模拟方法的萌发率虽有一定差异,但未呈现规律性变化,pH值为5、8、10时差异显著,其他pH条件下差异不显著;此时,所有pH值条件下的萌发

指数均差异极显著;处理液浸种时,所有pH值条件(除了pH值为6的以外)下,不同模拟方法的2个萌发参数差异显著或极显著,且这种差异主要存在磷酸缓冲液法与其他2种方法之间。用处理液浸种时,这种差异更大一些,2种浸种方法预处理后的试验结果相似,都是磷酸缓冲液法的最低。采用NaOH/HCl法时,pH值在4~10的条件下,2种浸种方法的萌发率均差异不显著,但处理液浸种的萌发指数显著或极显著低于蒸馏水浸种。蒸馏水浸种时,仅pH值为10的萌发率与对照差异显著($P < 0.05$),其他pH值条件下差异均不显著;pH值为5~7的萌发指数与pH值为9~10的差异显著,其他pH值条件下差异均不显著;用处理液浸种时,pH值为6的萌发率与对照十分接近,它们与pH值为5、7~9的萌发率差异不显著,与pH值为4、10的差异显著($P < 0.05$)。pH值为6~7的萌发指数与对照差异不显著,但与pH值为5~7的差异不显著,与pH值为4、8~10的差异显著或极显著。采用磷酸缓冲液法时,除pH值为6~7以外,在其他pH值条件下,处理液浸种的萌发率均显著或极显著低于蒸馏水浸种;在所有pH值条件下,处理液浸种的萌发指数均极显著低于蒸馏水浸种;pH值在4~10之间时,2种浸种方法的种子萌发率和萌发指数均显著低于对照,即使在中性和微酸性(pH值为6~7)条件下也是如此,用处理液浸种时这种差异更大一些。采用综合法时,2种浸种方法的萌发率在pH值为5~8范围内差异不显著,萌发指数在pH值为5~7范围内差异不显著,在其他pH值条件下差异均极显著,且都是处理液浸种极显著低于蒸馏水浸种;采用蒸馏水浸种时,仅pH值为4、10的萌发率与对照差异显著,其他pH值条件下差异均不显著;仅pH值为10的萌发指数显著低于对照外,其他pH值条件下差异均不显著。采用处理液浸种时,仅pH值为5~7的萌发率与对照差异不显著,pH值为4、8~10的萌发率与对照差异显著或极显著;pH值为6~7的萌发指数与对照差异不显著,其他pH值条件下差异均极显著。

从3种模拟方法的种子萌发进程(图1、图2)可知,磷酸缓冲液法的种子萌发率最低,萌发速度最慢。

2.2 3种酸碱环境模拟溶液对白菜种子活力指数及苗长、根长的影响

表2显示,pH值在4~10之间时,不同模拟方法的3个生长参数差异均极显著,且这种差异主要存在于磷酸缓冲液法与其他2种方法之间。2种浸种法预处理后的试验结果也比较一致,都是磷酸缓冲液法最低。采用NaOH/HCl法时,2种浸种方法的苗长(pH值为4~10)、pH值为6~7的根长、pH值为6~8的活力指数差异均不显著,其他pH值条件下的处理液浸种的活力指数和根长均显著或极显著低于蒸馏水浸种。采用蒸馏水浸种时,pH值为5的活力指数与对照差异显著,其他pH值条件下差异均不显著,所有pH值条件下的根长、苗长与对照差异均不显著。采用处理液浸种时,pH值为6~7的活力指数与对照差异不显著,其他pH值条件下与对照差异显著或极显著;pH值为6~7的根长与对照差异显著,其他pH值条件下与对照差异极显著;pH值为4~10的苗长与对照差异均不显著。采用磷酸缓冲液法时,pH值在4~10的条件下,2种浸种方法的苗长差异均不显著;除中性(pH值为7)条件下的根长差异不显著外,其他pH值条件下

表1 3种酸碱环境模拟溶液对白菜种子萌发的影响

模拟方法	浸种方法	指标	不同 pH 值下的指标值			
			CK	4	5	6
NaOH/HCl 法	蒸馏水浸种	萌发率 (%)	99.00 ± 1.15aA	96.50 ± 3.00abA	98.50 ± 1.00abA	99.00 ± 2.00aA
		萌发指数	3.68 ± 0.07abA	3.65 ± 0.15abA	3.75 ± 0.10aA	3.76 ± 0.07aA
	处理液浸种	萌发率 (%)	98.50 ± 1.19aAB	93.00 ± 4.16bB	97.50 ± 2.52abAB	99.00 ± 1.15aAB
		萌发指数	3.61 ± 0.17aA	2.98 ± 0.20bBC	3.43 ± 0.17aAB	3.57 ± 0.10aA
	F_1	0.05	1.79	0.73	0.10	
	F_2	0.72	28.72**	10.33*	10.11*	
磷酸缓冲液法	蒸馏水浸种	萌发率 (%)	99.50 ± 1.00aA	92.50 ± 3.79bcB	94.00 ± 1.63bcB	96.00 ± 1.63bB
		萌发指数	3.58 ± 0.15aA	1.67 ± 0.13dC	2.03 ± 0.06bB	1.99 ± 0.08bcB
	处理液浸种	萌发率 (%)	98.00 ± 1.63aA	55.50 ± 1.00dD	89.50 ± 3.00bB	94.50 ± 1.91abA
		萌发指数	3.60 ± 0.11aA	0.80 ± 0.03eE	1.50 ± 0.11bB	1.52 ± 0.03bB
	F_1	2.38	58.73**	7.46*	4.86	
	F_2	0.06	170.46**	69.62**	115.11**	
综合法	蒸馏水浸种	萌发率 (%)	99.5 ± 1.00aA	96.00 ± 1.63bB	98.00 ± 1.63abAB	98.50 ± 1.00abAB
		萌发指数	3.64 ± 0.16abA	3.50 ± 0.08abA	3.59 ± 0.11abA	3.68 ± 0.09aA
	处理液浸种	萌发率 (%)	97.5 ± 1.91aA	84.00 ± 3.65cB	95.00 ± 2.58abA	97.50 ± 1.91abA
		萌发指数	3.59 ± 0.15aA	2.36 ± 0.17dD	3.31 ± 0.16bB	3.65 ± 0.12aA
	F_1	2.88	40.90**	3.43	3.08	
	F_2	0.21	143.80**	5.08	0.24	
	F_3	0.30	1.59	5.18*	3.91	
	F_4	0.64	313.61**	318.77**	576.25**	
	F_5	0.30	36.66**	4.57*	2.75	
	F_6	0.01	215.78**	216.09**	680.99**	

模拟方法	浸种方法	指标	不同 pH 值下的指标值			
			7	8	9	10
NaOH/HCl 法	蒸馏水浸种	萌发率 (%)	97.00 ± 2.00abA	96.50 ± 1.00abA	96.50 ± 1.91abA	95.5 ± 2.52bA
		萌发指数	3.70 ± 0.09aA	3.61 ± 0.01abA	3.51 ± 0.15bA	3.53 ± 0.13bA
	处理液浸种	萌发率 (%)	97.00 ± 1.15abAB	96.00 ± 3.27abAB	96.50 ± 1.63abAB	93.5 ± 2.52bB
		萌发指数	3.50 ± 0.13aA	3.14 ± 0.18bB	2.78 ± 0.14cC	2.67 ± 0.18cC
	F_1	0.15	0.76	0.2	1.44	
	F_2	7.43*	21.74**	52.48**	62.48**	
磷酸缓冲液法	蒸馏水浸种	萌发率 (%)	94.50 ± 3.42bcB	92.00 ± 1.63bcB	89.00 ± 6.22cB	13.50 ± 3.42dC
		萌发指数	1.88 ± 0.88cBC	1.89 ± 0.10cBC	1.79 ± 0.16cdC	0.54 ± 0.03eD
	处理液浸种	萌发率 (%)	91.00 ± 3.46bB	52.00 ± 4.32cC	43.00 ± 2.58eE	4.50 ± 1.00fF
		萌发指数	1.31 ± 0.06cC	1.01 ± 0.07dD	0.60 ± 0.03fF	0.10 ± 0.02gG
	F_1	1.99	25.54**	58.10**	170.89**	
	F_2	125.76**	220.21**	219.84**	563.65**	
综合法	蒸馏水浸种	萌发率 (%)	98.00 ± 1.63abAB	98.00 ± 1.63abAB	97.50 ± 1.91abAB	95.50 ± 2.52bB
		萌发指数	3.65 ± 0.03abA	3.53 ± 0.21abA	3.46 ± 0.07bA	3.18 ± 0.18cB
	处理液浸种	萌发率 (%)	97.00 ± 2.58abA	94.50 ± 1.91bA	87.00 ± 2.00cB	82.00 ± 1.63cB
		萌发指数	3.55 ± 0.13abAB	3.09 ± 0.09cC	2.43 ± 0.07dD	2.17 ± 0.06eE
	F_1	0.15	5.66	20.38**	52.83**	
	F_2	2.49	14.71**	376.65**	111.25**	
	F_3	1.57	9.01*	4.17	264.79**	
	F_4	806.09**	182.57**	220.28**	623.86**	
	F_5	4.64*	15.41**	253.61**	914.04**	
	F_6	596.55**	396.73**	625.89**	646.02**	

注:同行数据后的不同小写、大写字母表示0.05、0.01水平上差异显著; *、**表示在0.05、0.01水平上差异显著。 F_1 、 F_2 表示蒸馏水、处理液2种浸种方法的萌发率、萌发指数比较的显著性检验值; F_3 、 F_4 表示蒸馏水浸种条件下3种模拟方法萌发率、萌发指数比较的显著性检验值; F_5 、 F_6 表示处理液浸种条件下3种模拟方法萌发率、萌发指数比较的显著性检验值。

表2 3种酸碱环境模拟溶液对白菜种子活力指数以及苗长、根长的影响

模拟方法	浸种方法	指标	不同 pH 值下的指标值				
			CK	4	5	6	
NaOH/HCl 法	蒸馏水浸种	活力指数	115.99 ± 26.81bAB	116.27 ± 26.92bAB	142.83 ± 33.29aA	120.32 ± 25.14abAB	
		根长 (mm)	21.76 ± 4.94abAB	20.72 ± 4.88bAB	25.80 ± 6.04aA	20.17 ± 3.72bB	
		苗长 (mm)	11.53 ± 2.44aA	11.25 ± 3.26aA	12.29 ± 2.15aA	11.83 ± 3.22aA	
	处理液浸种	活力指数	124.49 ± 27.52aA	78.54 ± 22.38cdB	104.77 ± 18.97bA	109.24 ± 23.16 abA	
		根长 (mm)	21.91 ± 3.69aA	13.73 ± 3.68cBC	17.69 ± 3.84bB	18.22 ± 3.63bAB	
		苗长 (mm)	12.53 ± 3.73aA	12.60 ± 3.63aA	12.89 ± 1.81aA	12.05 ± 2.71aA	
	F_1		0.49	11.62 **	9.87 **	1.25	
	F_2		0.01	13.10 **	12.83 **	1.41	
	F_3		0.5	0.77	3.23	0.03	
	磷酸缓冲液法	蒸馏水浸种	活力指数	119.43 ± 27.32aA	11.38 ± 2.89dC	37.88 ± 12.81bB	24.27 ± 5.80cC
			根长 (mm)	21.30 ± 4.59aA	4.22 ± 1.13dD	14.26 ± 4.32bB	8.35 ± 1.78cC
			苗长 (mm)	12.00 ± 2.15aA	2.61 ± 0.49cC	4.16 ± 1.67bB	3.80 ± 1.11bB
处理液浸种		活力指数	123.85 ± 24.36 aA	4.80 ± 2.11cC	18.31 ± 7.14bB	15.83 ± 5.34bB	
		根长 (mm)	22.05 ± 2.76aA	2.70 ± 0.75dC	7.74 ± 1.57bB	5.75 ± 1.80cB	
		苗长 (mm)	12.36 ± 2.64aA	2.05 ± 0.73cC	5.05 ± 1.77bB	4.70 ± 2.11bcB	
F_1			0.15	33.82 **	17.59 **	11.48 **	
F_2			0.01	12.56 **	20.16 **	10.53 **	
F_3			0.51	4.12	1.34	1.42	
综合法		蒸馏水浸种	活力指数	121.59 ± 28.13aA	101.78 ± 15.28bAB	112.40 ± 22.86abAB	117.92 ± 23.62abAB
			根长 (mm)	21.44 ± 4.20aA	16.66 ± 2.55bBC	20.61 ± 3.28aAB	21.15 ± 3.75aA
			苗长 (mm)	11.85 ± 2.31aA	12.45 ± 2.17aA	10.69 ± 3.18aA	10.85 ± 2.61aA
	处理液浸种	活力指数	123.33 ± 23.49aA	58.23 ± 11.74dD	98.57 ± 15.61bB	116.88 ± 10.60abA	
		根长 (mm)	21.85 ± 4.09aA	13.74 ± 2.52cC	16.95 ± 2.84bB	20.25 ± 2.67abA	
		苗长 (mm)	12.50 ± 2.48abA	10.80 ± 1.75bcABC	12.35 ± 2.30abAB	12.65 ± 1.73aA	
	F_1		0.02	51.07 **	2.49	0.02	
	F_2		0.01	7.05 *	7.12 *	0.38	
	F_3		0.51	3.5	1.79	3.28	
	F_4		0.13	100.29 **	48.72 **	73.56 **	
	F_5		0.03	70.22 **	15.21 **	48.97 **	
	F_6		0.11	55.59 **	25.33 **	31.21 **	
	F_7		0.01	67.64 **	106.58 **	124.69 **	
	F_8		0.01	59.61 **	36.44 **	85.45 **	
	F_9		0.01	56.98 **	49.15 **	39.54 **	
模拟方法	浸种方法	指标	不同 pH 值下的指标值				
			7	8	9	10	
NaOH/HCl 法	蒸馏水浸种	活力指数	116.22 ± 28.38bAB	108.01 ± 34.52bB	103.78 ± 23.58bB	105.1 ± 16.10bB	
		根长 (mm)	19.85 ± 3.91bB	18.68 ± 5.74bB	17.73 ± 3.94bB	18.22 ± 3.30bB	
		苗长 (mm)	11.45 ± 3.69aA	11.16 ± 3.87aA	11.81 ± 2.85aA	11.61 ± 2.05aA	
	处理液浸种	活力指数	108.74 ± 20.33abA	83.32 ± 12.95cB	68.70 ± 17.92cdB	64.37 ± 12.45dB	
		根长 (mm)	18.35 ± 3.73bAB	13.65 ± 2.23cC	12.54 ± 2.64cC	12.17 ± 3.00cC	
		苗长 (mm)	12.74 ± 2.35aA	12.96 ± 2.20aA	12.07 ± 3.20aA	12.03 ± 2.47aA	
	F_1		0.46	4.48	14.03 **	39.84 **	
	F_2		0.77	6.67 *	11.97 **	19.72 **	
	F_3		0.87	1.64	0.04	0.17	
	磷酸缓冲液法	蒸馏水浸种	活力指数	9.64 ± 2.16dC	9.66 ± 1.50dC	8.98 ± 1.66dC	0.87 ± 0.13eC
			根长 (mm)	2.63 ± 0.68deD	2.55 ± 0.55deD	2.32 ± 0.52deD	1.63 ± 0.29eD
			苗长 (mm)	2.50 ± 0.51cC	2.58 ± 0.50cC	2.69 ± 0.56cC	0.00 ± 0.00dD
处理液浸种		活力指数	6.48 ± 2.28cC	3.90 ± 1.49cC	2.22 ± 0.85dC	0.11 ± 0.03eD	
		根长 (mm)	2.69 ± 1.06dC	1.70 ± 0.92deC	1.55 ± 0.69deC	1.14 ± 0.21eC	
		苗长 (mm)	2.25 ± 0.60cC	2.15 ± 0.67cC	2.10 ± 0.65cC	0.00 ± 0.00dD	
F_1			10.03 **	74.92 **	138.42 **	334.49 **	
F_2			0.02	6.27 *	8.04 *	18.87 **	
F_3			1.03	2.85	3.67	0	

续表 2

模拟方法	浸种方法	指标	不同 pH 值下的指标值			
			7	8	9	10
综合法	蒸馏水浸种	活力指数	115.78 ± 19.17abAB	95.85 ± 20.65bB	92.66 ± 17.95bB	72.58 ± 12.14cB
		根长 (mm)	20.91 ± 3.09aA	16.81 ± 2.79bB	16.32 ± 2.73bBC	12.76 ± 2.50cC
		苗长 (mm)	10.84 ± 2.91aA	10.31 ± 2.70aA	10.45 ± 2.77aA	10.06 ± 1.24aA
	处理液浸种	活力指数	109.45 ± 21.81bAB	76.96 ± 13.30cC	50.76 ± 9.36deDE	39.61 ± 7.27eE
		根长 (mm)	18.85 ± 3.05bAB	13.27 ± 2.73cdC	11.15 ± 1.86dCD	9.97 ± 1.95dD
		苗长 (mm)	11.97 ± 3.02abAB	11.65 ± 1.90abcAB	9.68 ± 1.98cdBC	8.32 ± 1.50dC
	F_1		0.48	5.92 *	42.83 **	54.30 **
	F_2		2.25	8.23 *	24.45 **	7.76 *
	F_3		0.73	1.63	0.51	8.01 *
F_4		96.08 **	53.21 **	94.31 **	209.42 **	
F_5		124.85 **	56.90 **	93.57 **	124.59 **	
F_6		33.56 **	29.84 **	45.01 **	207.77 **	
F_7		117.76 **	168.39 **	86.80 **	151.53 **	
F_8		103.82 **	104.27 **	98.67 **	88.86 **	
F_9		68.37 **	17.15 **	55.75 **	136.27 **	

注: F_1 、 F_2 、 F_3 表示 2 种浸种方法活力指数、根长和苗长比较的显著性检验值; F_4 、 F_5 、 F_6 表示蒸馏水浸种条件下 3 种模拟方法活力指数、根长和苗长比较的显著性检验值; F_7 、 F_8 、 F_9 表示处理液浸种条件下 3 种模拟方法活力指数、根长和苗长比较的显著性检验值。

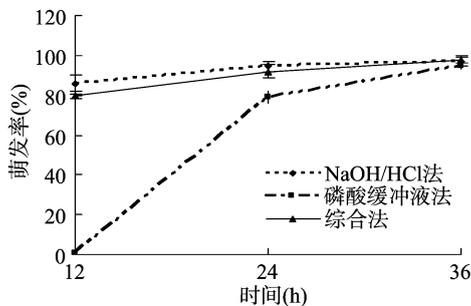


图1 蒸馏水浸种条件下 3 种模拟方法的萌发率

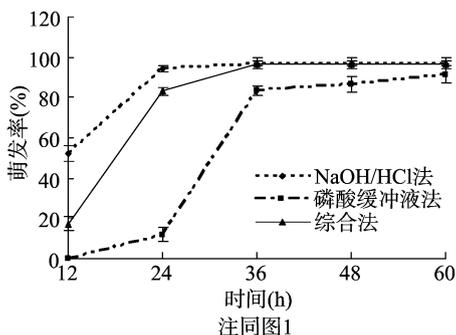


图2 处理液浸种条件下 3 种模拟方法的萌发率

的根长和活力指数均差异显著,且均是处理液浸种的低于蒸馏水浸种的。同时,2 种浸种方法的上述 3 个生长参数在所有 pH 值条件下均极显著低于对照。采用综合法时,2 种浸种方法的苗长(pH 值为 4~9)、根长(pH 值为 6~7)、活力指数(pH 值为 5~7)差异均不显著,其他 pH 值条件下的处理液浸种的活力指数和根长均显著或极显著低于蒸馏水浸种。采用蒸馏水浸种时,pH 值为 5~7 的活力指数和根长与对照差异不显著,其他 pH 条件下均差异显著或极显著;在 pH 值为 4~10 的条件下,苗长与对照差异均不显著。采用处理液浸

种时,pH 值为 6 的活力指数和根长与对照差异均不显著,其他 pH 值条件下差异显著或极显著;pH 值为 4~8 时的苗长与对照差异不显著,仅 pH 值为 9~10 时差异极显著。

上述研究结果表明,磷酸缓冲液不仅对白菜种子萌发的抑制作用显著,而且对幼苗生长的抑制作用也显著,因而不宜作为酸碱环境的模拟方法。同时,综合种子萌发和幼苗生长 2 个阶段的研究结果不难看出,综合法模拟的结果更接近白菜种子对酸碱环境的适应情况。

3 结论与讨论

土壤 pH 值是影响种子萌发和幼苗生长的重要环境因子^[17],不同植物有不同的 pH 值适应范围。中性和偏酸性的环境有利于白菜种子萌发和幼苗生长,碱性和强酸性环境有显著抑制作用^[18-19]。在本研究中,3 种模拟方法在偏酸性和中性条件下的 5 个参数值均最大(表 1、表 2)。研究结果进一步证实,中性和偏酸性的环境有利于白菜种子萌发和幼苗生长。

在强酸性或碱性条件下,NaOH/HCl 法的各参数值仍然维持很高的水平,尤其在蒸馏水浸种时。而此时,综合法的各参数值却显著低于对照。在 pH 值为 4~10 的条件下,磷酸缓冲液法的各参数均远低于对照,且在大多数情况下,萌发的幼苗多为畸形苗或黄化苗。这表明磷酸缓冲液对白菜种子萌发和幼苗生长有明显的抑制和毒害作用,是最不适宜的模拟方法。综合法更接近白菜种子对酸碱环境的实际适应情况,是最佳方法。

因种子萌发所需的物质和能量主要依靠自身贮存的营养提供,加之有种皮的保护,所以相对于幼苗阶段,种子萌发阶段受不良环境的影响会小一些^[13,20]。萌芽速度快的种子受到的影响会更小,尤其在吸足水分后。因为在不良环境产生的胁迫作用显现之前,种子已经完成了萌发过程。这应该是白菜种子萌发率在所有 pH 值条件下均很高的主要原因(磷

酸缓冲液法除外),这种萌发情况显然与白菜的实际状况不相符。另外,在野外条件下,种子一开始就处于相应的酸碱环境中。因此,采用处理液浸种才能更好地反映种子对酸碱环境的实际适应能力。

采用 NaOH/HCl 和 $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 等离子化合物模拟酸碱环境时,不仅 pH 值会对种子萌发和幼苗生长产生影响,而且这些化合物还可通过渗透效应和离子效应对种子产生盐胁迫^[21-22]。有的研究表明,在盐胁迫中起主要抑制作用的是渗透胁迫^[23];有的研究表明,起主要作用的是离子效应,尤其是 Na^+ 毒害作用^[24]。过多的 Na^+ 会使相关代谢酶失活而对种子萌发和幼苗生长产生毒害作用^[25-26]。一定浓度的磷酸根也会对种子萌发和幼苗生长产生明显的抑制作用^[27]。在本研究中,NaOH 和 HCl 的浓度为 1 mol/L,而 Na_2HPO_4 和 NaH_2PO_4 浓度仅为 0.2 mol/L。前者的离子浓度虽远高于后者,但是在所有 pH 值条件下,后者对白菜种子萌发和幼苗生长的抑制作用都远大于前者。由此可知,离子效应(尤其是磷酸根的存在)应该是白菜种子萌发和幼苗生长受到严重抑制的主要原因。采用综合法时,因各 pH 值区段使用的化合物浓度仅为 2 mmol/L,并且各区段化合物均处于其最适缓冲范围内,所以调节 pH 值时使用的 NaOH 和 HCl 量也很小,加之使用的又多是而非离子化合物(如 HEPES)。因此,该方法的离子浓度远低于前 2 种方法,因大量离子的存在而引起的渗透效应和离子毒害也必然会小很多,这也应该是该方法模拟效果最好的主要原因。

在探讨 pH 值对种子萌发和幼苗生长的影响时,须要提供稳定的 pH 值环境。不同模拟方法的 pH 值稳定性往往不同,由于有同离子效应,缓冲液法的稳定性好于 NaOH/HCl 法。又由于综合法在不同 pH 值区段采用了处于最适缓冲范围的缓冲液,所以其 pH 值的稳定性(即缓冲效果)应该是最好的。无论是在处理液配制过程中,还是在种子萌发的过程中,NaOH/HCl 溶液都容易发生 pH 值的跃变,这必然会影响到研究结果的准确性,这也应该是该方法模拟效果不佳的主要原因之一。

参考文献:

[1] Gutterman Y. Strategies of seed dispersal and germination in plants inhabiting deserts[J]. Botanical Review, 1994, 60(4): 373-425.

[2] Chauhan B S, Johnson D E. Influence of environmental factors on seed germination and seedling emergence of ecliptha (*Eclipta prostrata*) in a tropical environment[J]. Weed Science, 2008, 56(3): 383-388.

[3] 张凤娟,李继泉,徐兴友,等. 环境因子对黄顶菊种子萌发的影响[J]. 生态学报, 2009, 29(4): 1947-1953.

[4] 李银科,王菲,羊波,等. 土壤 pH 值对烟叶化学成分和品质的影响[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(12): 98-100.

[5] 马红媛,梁正伟. 不同 pH 值土壤及其浸提液对羊草种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 植物学通报, 2007, 24(2): 181-188.

[6] 陈婵婵,肖斌,余有本,等. 陕南茶园土壤有机质和 pH 值空间变异及其与速效养分的相关性[J]. 西北农林科技大学学报:自

然科学版, 2009, 37(1): 182-188.

[7] 李淑艳,王建中. 萌发 pH 值对大豆种子蛋白质代谢的影响研究[J]. 种子, 2009, 28(6): 1-4, 8.

[8] Hemigserver N, Eshel A, Neeman G. pH and osmotic potential of pine ash as post-fire germination inhibitors[J]. Physiologia Plantarum, 1996, 96(1): 71-76.

[9] 邵小明,吴文良. 升马唐种子萌发和出苗特性的研究[J]. 生态学杂志, 1999, 18(3): 24-27.

[10] 高健,熊勤,李祝,等. 溶氧、pH 及其他理化因子对菹荇眼子菜种子萌发的影响[J]. 水生生物学报, 2006, 30(5): 524-529.

[11] 罗小娟,吕波,李俊,等. 鳢肠种子萌发及出苗条件的研究[J]. 南京农业大学学报, 2012, 35(2): 71-75.

[12] 严文斌,全国明,章家恩,等. 环境因子对三叶鬼针草与鬼针草种子萌发的影响[J]. 生态环境学报, 2013, 22(7): 1129-1135.

[13] 韩建明,张鹏英. 模拟碱胁迫对绿豆种子萌发与幼苗生长发育的影响[J]. 草业科学, 2010, 27(8): 84-87.

[14] 马成仓,洪法水. pH 对油菜种子萌发和幼苗生长代谢的影响[J]. 作物学报, 1998, 24(4): 509-512.

[15] 刘龙昌,徐蕾,冯佩,等. 外来杂草小花山桃草种子休眠萌发特性研究[J]. 生态学报, 2014, 24(24): 7338-7349.

[16] 李梅,尹明权,赵磊,等. 青叶胆种子发芽特性的研究[J]. 云南农业大学学报, 2005, 20(4): 593-596.

[17] Bie Z L, Ito T, Shinohara Y. Effects of Sodium sulfate and sodium bicarbonate on the growth, gas exchange and mineral composition of lettuce[J]. Scientia Horticulturae, 2004, 99(3/4): 215-224.

[18] 邓立新,黄川,赵淑梅,等. 电解水对小白菜种子发芽的影响[J]. 农机化研究, 2010, 32(2): 133-136.

[19] 孟赫,董德明,王菊,等. 模拟酸雨对东北地区农作物生长、生理及品质的影响[J]. 吉林大学学报:地球科学版, 2011, 41(3): 866-872.

[20] 石德成,殷立娟. 盐(NaCl)与碱(Na_2CO_3)对星星草胁迫作用的差异[J]. 植物学报, 1993, 35(2): 144-149.

[21] Parida A K, Das A B. Salt tolerance and salinity effect on plants—a review[J]. Ecotoxicology and Environment Safety, 2005, 60(3): 324-349.

[22] 杨景宁,王彦荣. NaCl 胁迫对四种荒漠植物种子萌发的影响[J]. 草业学报, 2012, 21(5): 32-38.

[23] 曾幼玲,蔡忠贞,马纪,等. 盐分和水分胁迫对两种盐生植物盐爪爪和盐穗木种子萌发的影响[J]. 生态学杂志, 2006, 25(9): 1014-1018.

[24] 陈静波,刘建秀. 狗牙根抗盐性评价及抗盐机理研究进展[J]. 草业学报, 2012, 21(5): 302-310.

[25] 王素平,郭世荣,周国贤,等. NaCl 胁迫下黄瓜幼苗体内 K^+ 、 Na^+ 和 Cl^- 分布及吸收特性的研究[J]. 西北植物学报, 2006, 26(11): 2281-2288.

[26] 张万钧,王斗天,范海,等. 盐生植物种子萌发的特点及其生理基础[J]. 应用与环境生物学报, 2001, 7(2): 117-121.

[27] 王红俊,郭婷,杨云贵. 磷酸根浓度对多年生黑麦草种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 中国农学通报, 2013, 29(22): 203-207.